

# **Zusammenhänge zwischen sozioökonomischen und anthropometrischen Daten und der Cortisolkonzentration im Haar gesunder Kinder**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Dr. med.  
an der Medizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von:

Maximiliane Wagner

Geburtsdatum / Geburtsort:

04.03.1993 / Frankenberg

angefertigt an der Universität Leipzig, Medizinische Fakultät, Klinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche in Zusammenarbeit mit dem Leipziger Forschungszentrum für Zivilisationserkrankungen (LIFE)

Direktor: Prof. Dr. med. Wieland Kiess

Betreuer: Prof. Dr. med. Wieland Kiess

Co – Betreuer: Prof. Dr. Jürgen Kratzsch

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom:

## Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis .....	1
2	Einleitung .....	2
2.1	Problembereich und Forschungsstand .....	2
2.2	Pubertät .....	6
2.2.1	Definition und hormoneller Ablauf .....	6
2.2.2	Tannerstadien und zeitlicher Ablauf .....	8
2.3	Cortisol.....	10
2.3.1	Bildung und Freisetzung.....	10
2.3.2	Physiologie der Haarcortisolwerte .....	11
2.4	Die LIFE Child Studie .....	12
2.4.1	Studiendesign und Ziele .....	12
2.4.2	Anthropometrische Datenbestimmung bei Kindern in der LIFE Child Studie .....	13
2.5	Hypothesen, Frage- und Zielstellungen .....	14
3	Originalartikel.....	15
4	Zusammenfassung .....	24
5	Literatur .....	28
6	Erklärung über eigenständige Abfassung der Arbeit.....	32
7	Darstellung des eigenen Beitrages .....	33
8	Lebenslauf .....	35
9	Danksagung.....	37

## 1 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
HCC	hair cortisol concentration
HPA	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinde
BMI	body mass index
GABA	Gammaaminobuttersäure
LH	Luteinisierendes Hormon
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
NYHA	New York Heart Association
PVN	Nucleus paraventricularis
LIFE	Leipziger Forschungszentrums für Zivilisationserkrankungen
BIA	Bio- Impedanz- Analyse
SES	Sozioökonomischer Status
cm	Centimeter trivial
mg	Milligramm trivial

## 2 Einleitung

### 2.1 Problembereich und Forschungsstand

Cortisol ist das Endprodukt der HPA– Achse und gilt als ein wichtiges Stresshormon [1]. Die Sekretion folgt einer zirkadianen Rhythmik, somit stellt die herkömmliche Bestimmung des Cortisolspiegels im Speichel oder Serum nur eine Momentaufnahme dar, beeinflusst von Tageszeit und aktuellem Stress [2]. Mittels 24h- Urin kann ein erweiterter Einblick in die tägliche Cortisolproduktion gewährleistet werden. Dennoch ist diese Erfassungsmethode oft beschwerlich und die Ergebnisse teilweise nicht vertrauenswürdig, da Plasma- und Urincortisolwerte leicht durch Rauchen, Nahrungsaufnahme oder temporären Stress beeinflusst werden können [3]. In den letzten 10 Jahren ist es immer präziser gelungen, in Haarproben Cortisol nachzuweisen [4]. Damit ist es möglich, Langzeit-Cortisolspiegel zu erfassen und somit einen retrospektiven Einblick in die Cortisolsekretion der letzten ein bis zwei Monate zu erlangen. Die Probenentnahme ist dabei weitaus unkomplizierter, kostengünstiger und weniger invasiv als bisherige Methoden. Vorangegangene Studien bestätigen dabei die Korrelation zwischen Cortisolwerten im 24h-Urin und der Messung der Haarcortisolwerte [5]. Die HCC kann in der gegenwärtigen Forschung als wertvolles diagnostisches Werkzeug in Patienten mit relevantem Hypercortisolismus, wie beim Cushing- Syndrom, genutzt werden [3]. Weiterhin werden auch physiologische Haarcortisolkonzentrationen mit dem metabolischen Syndrom [6], Adipositas [7] und Herzkreislauferkrankungen [8] assoziiert [3]. Patienten mit Cushing- Syndrom zeigten signifikant höhere Haarcortisollevel als gesunde Patienten, weiterhin fiel der Cortisolwert bei erfolgreicher Therapie [9]. Bei der kongestiven Herzinsuffizienz, die mit erhöhtem Stresslevel und Verschiebungen im Metabolismus zugunsten des Katabolismus einhergeht, korrelierten die

Cortisollevel im Haar positiv mit der New York Heart Association (NYHA) Klassifikation der Herzinsuffizienz [10]. In einer Studie von Manenschiijn et al. ergab sich ein höheres Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und Typ- 2- Diabetes in Verbindung mit höheren Haarcortisolwerten [8]. Eine weitere Studie zeigte erhöhte Haarcortisolwerte bei Patienten mit vorangegangenen Myokardinfarkt [11].

Auch im Bereich der psychischen Erkrankungen und Suchterkrankungen konnten Assoziationen zum Haarcortisol gezeigt werden. So ermittelten Stalder et al. drei- bis vierfach höhere Haarcortisolwerte bei Alkoholikern mit akutem Abusus im Vergleich zu abstinente Alkoholikern. Zwischen abstinente Alkoholikern und gesunden Probanden fand sich kein signifikanter Unterschied [12]. Bei Patienten mit einer „Major Depression“ konnte eine erhöhte HCC gemessen werden. Im Zusammenhang mit bipolaren Störungen zeigte sich ein Anstieg der HCC im späten Erkrankungsalter [13]. Chronische Schmerzpatienten wiesen ebenfalls höhere HCC auf als gesunde Patienten [14].

Neben der eben genannten Dynamik der Haarcortisolwerte im Erwachsenenalter werden zunehmend auch während der Entwicklung des Kindes, bei kindlichen Erkrankungen oder deren Folgen, Veränderungen der HCC beobachtet. Cortisol ist ein wichtiger Biomarker für Stress und traumatische Lebensereignisse [15, 16]. Erhöhte HCC ging mit psychologischen Traumen, berichtet über den „Lifetime Incidence of Traumatic Events Parent-Report“, in der Kindheit einher [17]. Groeneveld et al. erfassten mittels Haarcortisol den Stress, welchen gesunde Kinder beim Eintritt in den Schulalltag erleben. HCC wurde 2 Monate vor dem Schuleintritt, sowie 2 Monate nach dem Schulanfang untersucht. Es wurde, besonders bei ängstlichen Kindern, signifikant höheres HCC nach dem Schuleintritt gemessen [18]. Im Bereich der emotionalen und Verhaltensstörungen konnten bei Jungen mit

Symptomen eines Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) erniedrigte HCC gemessen werden [19].

In einer weiteren Studie verglich man den soziökonomischen Status (SES) der Eltern mit der HCC ihrer Vorschulkinder. Dabei ergaben sich keine Relationen zum elterlichen Gehalt oder dem Alter der Eltern, jedoch zum Bildungsstand von Mutter und Vater. Die Cortisollevel von Kindern, deren Mütter keinen Highschoolabschluss absolvierten waren am höchsten und am niedrigsten bei Müttern mit Highschoolabschluss und nachfolgendem Titel bzw. weiterführendem Abschluss [20]. Karlén et al. verglichen die Haarcortisolspiegel mit soziodemografischen Daten. Dabei wurde die HCC der Kinder im Alter von 1, 3, 5 und 8 Lebensjahren gemessen. Einen relevanten Einfluss auf die HCC zeigten der Wohnort und die soziale Betreuung der Studienteilnehmer. Kinder, die in Eigenheimen lebten, wiesen eine niedrigere HCC auf, als Kinder, die mit ihren Familien in Wohnungen lebten. Weiterhin hatten Kinder mit sehr jungen, alleinerziehenden oder rauchenden Müttern eine erhöhte HCC [21].

Bezüglich der Anthropometrie des Kindes konnten bisherige Studien eine erhöhte HCC bei übergewichtigen Kindern feststellen. Wester et al. publizierten ein erhöhtes Haarcortisol bei adipösen Probanden, kein Unterschied ergab sich jedoch zwischen übergewichtigen und normalgewichtigen Probanden [7, 22, 23]. In einer vorangegangenen Studie von Noppe et. al. konnte eine steigende HCC mit steigendem Alter beobachtet werden. Dabei stieg die HCC bis zum Alter von 10 Jahren an [3]. Jungen zeigten in bisherigen Studien häufiger höhere HCC als Mädchen [24, 25], einige Studien konnten hingegen keine signifikanten geschlechterspezifischen Unterschiede feststellen [18, 26]. Bei Erwachsenen gab es Vergleichsstudien zwischen HCC von übergewichtigen und nicht übergewichtigen

Probanden. Dabei ergab sich ebenso wie bei Kindern für übergewichtige Patienten ein höheres HCC als für Normalgewichtige. [3]. Weiterhin zeigten sich signifikant niedrigere HCC- Level bei Frauen gegenüber Männern [8]. Die Ethnizität zeigt außerdem Einfluss auf die HCC, Afroamerikaner und Hispanics wiesen signifikant höhere HCC als Europäer auf [27].

Aus den vielen vorangegangenen Studien über die Zusammenhänge zwischen Haarcortisol und Entwicklung, Stress oder Krankheiten bei Kindern, wird die Relevanz der HCC deutlich. Dennoch sind auch viele Widersprüche in eben jenen Studien erkennbar [24], was die enorme Wichtigkeit unterstreicht, Einflussfaktoren genauer zu analysieren. Entwicklungsbedingt kann es zu physiologischen Schwankungen des hormonellen Haushalts, und damit der Cortisolkonzentration kommen, ohne dass diese einem Krankheitswert unterliegen [28]. Ziel dieser Forschungsarbeit ist daher, mittels Untersuchung allgemeiner anthropometrischer Einflussfaktoren, wie Gewicht und Geschlecht, SES oder Pubertätsstatus ein umfangreiches Verständnis des Parameters Haarcortisol zu erlangen und dieses nützlich in die klinische Diagnostik einzubringen und bisher gewonnene Erkenntnisse der HCC- Forschung in einer bevölkerungsbasierten, gesunden Kohorte belegen. In wenigen vorausgehenden Studien wurden das Alter, das Geschlecht und der Body-Mass-Index (BMI) des Kindes schon in Verbindung mit ihrem Haarcortisol untersucht, noch weniger Studien beschäftigten sich allerdings bisher mit der Pubertät des Kindes und den Auswirkungen auf den Cortisolhaushalt [24]. Daher soll gerade dies unser Schwerpunkt in sein.

## 2.2 Pubertät

### 2.2.1 Definition und hormoneller Ablauf

Die Pubertät beschreibt die Zeit des Übergangs zwischen Kindheit und Erwachsenenalter, gekennzeichnet durch die Entwicklung sekundärer Geschlechtsmerkmale, die Reifung der Gonaden und die Erlangung der Fortpflanzungsfähigkeit. Hormonell wird dieser Entwicklungsprozess in der HPA - Achse kontrolliert [29, 30]. Im präoptischen Bereich des Hypothalamus wird das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) produziert und pulsatil freigesetzt [29]. Das vom Hypothalamus freigesetzte GnRH wirkt nun stimulierend auf die Gonadotropinfreisetzung, Luteinisierendes Hormon (LH), sowie Follikel stimulierendes Hormon (FSH) aus der Hypophyse. Diese stimulieren konsekutiv die Ausschüttung der gonadal produzierten Sexualsteroiden, unter deren Einfluss die klinische Pubertätsentwicklung steht.

Die HPA- Achse erfährt starke Veränderungen während des fetalen Lebens, Kleinkindalters und der Kindheit. Sie ist im Fetus und Neugeborenen, der sogenannten „Mini-Pubertät“ aktiv und tritt dann während der Kindheit in einen Ruhezustand ein. Die zeitlich bestimmenden Faktoren dafür sind sehr variabel und können endogener, exogener und auch genetischer Natur sein [31].

Drei Jahre bevor erste physische Zeichen der Pubertät festgestellt werden können, konnten in Proben gesunder Kinder, niedrig amplitudige Peaks von LH und FSH gemessen werden [28]. Dabei waren die FSH- Peaks höher, als die LH- Peaks, Gonadotropinfreisetzung konnte nicht festgestellt werden. Ein Jahr vor Beginn der Brustknospung wurde in präpubertären Mädchen während des Schlafes ein erhöhter Peak von LH gemessen. Als die knospende Brust bei Mädchen erkennbar geworden



ist, erreichten die LH- Konzentrationen mehr als das Zehnfache, während sich die pulsatile FSH- Amplitude verdoppelte [28, 32].

Die Zunahme der LH- Amplitude ist durch die gesteigerte Empfindlichkeit der Hypophyse auf GnRH zu erklären. Einerseits durch die erhöhte Anzahl der GnRH- Rezeptoren, andererseits wird davon ausgegangen, dass die Gammaamino- buttersäure (GABA) mit tonisch- inhibitorischer Wirkung präpubertär auf die GnRH- Ausschüttung wirkt. Somit soll die mit Beginn der Pubertät einsetzende, reduzierte Hemmung von GABA auf GnRH ebenfalls verantwortlich für die gesteigerte GnRH- Freisetzung während der pubertären Entwicklung sein [33]. Die Frequenz der FSH- und LH- Hormonausschüttungen sinkt ab und pegelt sich auf tägliche Ausschüttung ein. Ebenfalls steigt noch vor der Periode der Estradiol-17-beta- Spiegel an und entwickelt sich zu einer 24h-Rhythmik mit Maximum am Morgen [34]. Damit wird deutlich, dass die neuronal gesteuerten, veränderten Hormonausschüttungen schon vor der Menarche stattfinden. Der Auslöser für diese Prozesse ist noch nicht vollständig geklärt. Als nachgewiesen gilt, dass das Einsetzen der Gonadarche in erster Linie nicht allein von der Reifung der Ovarien oder der Adenohypophyse abhängig ist, sondern dass es verschiedene Determinanten gibt, die den Beginn der Pubertät beeinflussen. Die Reifung des neurosekretorischen Systems, genetische Faktoren, endogene Signale und Umweltreize beeinflussen in einem dynamischen Zusammenspiel den Beginn der Pubertät [35]. Eine weitere wichtige Rolle in der Induktion der Pubertät kommt dem 2001 entdeckten Kisspeptin zu. Kisspeptin, das für das Gen KISS1 kodiert und Ligand des des GPR54- Rezeptors ist, wurde ursprünglich als „Metastasis suppressor gene“ in Melanomzellen entdeckt [36]. Es gehört nunmehr zu den wichtigsten Stimulatoren der HPA- Achse, denn

inaktivierende Mutationen von GPR54 führen beim Menschen zum Ausbleiben der Pubertät und damit zum hypogonadotropen Hypogonadismus und Infertilität [37].

### 2.2.2 Tannerstadien und zeitlicher Ablauf

Für die Einteilung der einzelnen sexuellen Reifezeichen wird gegenwärtig die Einteilung nach Tanner verwendet [38]. Sie dient der Beschreibung sichtbarer, physischer Entwicklungen während der Pubertät und charakterisiert die Entwicklung der Pubesbehaarung (P) und Brustentwicklung (B) bei den Mädchen und die Genitalentwicklung beim Jungen (G) vom präpubertären Zustand (1) bis hin zur vollständigen Ausprägung des Merkmals (5 oder 6) [39]:

#### Brustentwicklung (B) nach Tanner:

- *B I* – vorpubertär – keine tastbare Brustdrüse, Brustdrüse ist nicht vorgewölbt
- *B II* – Pubertätsbeginn - Die Brustknospe entwickelt sich, Brustdrüsengewebe beginnt tastbar zu werden; die Areola ist leicht vergrößert.
- *B III* – Die Brust beginnt sich zu wölben, das Drüsengewebe ist größer als die Grenzen der Areola..
- *B IV* – Brustgröße und Erhebung nehmen zu, die Mamille und die Areola heben sich von der Brustkontur ab.
- *B V* – Die Brust erreicht ihre Endgröße, die Areola bildet wieder eine Ebene mit der Brustkontur, die Mamille steht hervor.

#### Pubesbehaarung (P) nach Tanner:

- *P I* – vorpubertär – keine echte Behaarung im Schambereich, nur feines Flaumhaar.

- *P II* – wenige lange, flaumige Haare mit nur geringer Pigmentierung an der Basis des Penis und des Skrotums beziehungsweise auf den äußeren Schamlippen.
- *P III* – Das Haar wird kräftiger, gekräuselt und dunkler; es breitet sich weiter aus.
- *P IV* – Ausbreitung der Schambehaarung über die Mons pubis.
- *P V* – erwachsen – das Haar breitet sich über Schenkel und horizontal bis zur Linea alba weiter aus.
- *P VI* – weitere dreieckförmige Ausdehnung der Schambehaarung auf der Linea alba zum Nabel hin

#### Genitalentwicklung nach Tanner (G):

- *G I* – vorpubertär, das Hodenvolumen ist kleiner als 3 ml; der Penis ist klein.
- *G II* – Pubertätsbeginn: Das Hodenvolumen ist größer als 3ml; die Haut des Hodensackes verdünnt sich, wird rötlicher und erweitert sich; unveränderte Penislänge.
- *G III* – weitere Vergrößerung des Hodens (6–12 ml); das Skrotum vergrößert sich weiter; die Penislänge nimmt zu.
- *G IV* – Hodenvolumen zwischen 12 und 20 ml; das Skrotum wird größer und dunkler; die Penisgröße nimmt in Umfang und Länge zu, Entwicklung der Glans.
- *G V* – erwachsen – Hodenvolumen entspricht dem eines Erwachsenen; Hodensack und Penis ausgewachsen.

Die Thelarche (zwischen vollendeten 8. und 13. Lebensjahr) ist bei Mädchen meist das erste Pubertätsmerkmal, darauf folgt die Pubarche innerhalb eines Jahres. Als normale Variante kann auch die Pubarche zuerst stattfinden, bei sonstigem normalen Zeitablauf. Der Zeitraum zur Menarche beträgt dann noch circa zwei Jahre.

Der Pubertätswachstumsschub tritt beim Mädchen etwa im Alter von zwölf Jahren auf [39]. Bei den Jungen ist meist die Zunahme des Hodenvolumens auf >3ml zwischen vollendetem 11. – 15. Lebensjahr das erste Anzeichen auf die beginnende Pubertät, subjektiv wird aber die Pubesbehaarung, die im Mittel 6 Monate später auftritt als Pubertätsbeginn, wahrgenommen. Durch den vermehrten Anstieg von Östrogen und Testosteron kommt es zur gesteigerten Sekretion von Wachstumshormon und damit zum Pubertätswachstumsschub. Dieser tritt bei Jungen in etwa um das 14. Lebensjahr ein [39]. Zur detaillierten Übersicht des zeitlichen Ablaufs siehe Abb.1 [39].

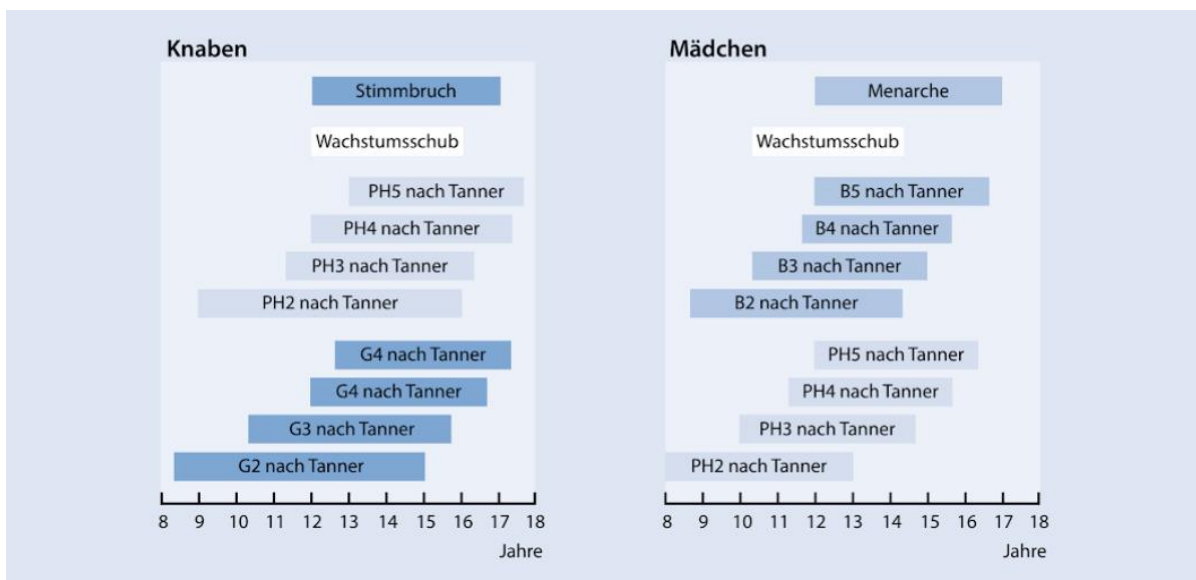


Abb.1 Zeitlicher Verlauf der Pubertätsstadien bei Mädchen und Jungen [39]

## 2.3 Cortisol

### 2.3.1 Bildung und Freisetzung

Cortisol ist das periphere Produkt der HPA- Achse. Als höchste Instanz produziert der Nucleus paraventricularis (PVN) des Hypothalamus Corticotropes Releasing Hormone (CRH) und Arginin Vasopressin (AVP). Diese erreichen den Hypophysenvorderlappen und stimulieren dort kortikotrophe Zellen, die wiederum das Adrenocorticale Hormon (ACTH) produzieren. ACTH verlässt das zentrale

Nervensystem und stimuliert in der der Nebennierenrinde die Ausschüttung von Corticosteroiden wie Cortisol und Dehydroepiandrosteron (DHEA) [40]. Dabei unterliegt dessen Freisetzung einer starken zirkadianen Freisetzung, die auf die Rhythmik der CRH- Sekretion zurückzuführen ist. Es ist zu beobachten, dass die morgendlichen Cortisolspiegel am höchsten sind und zum Tagesende absinken. Cortisol gehört zu den Glukokortikoiden. Im Falle einer Belastung versetzen sie den Organismus in die Lage, Anstrengungen wie z.B. körperliche Arbeit, zu bewältigen. Dabei stimulieren sie Glukoneogenese, steigern die Expression der Glykogensynthese und fördern den Proteinabbau. Cortisol triggert auch die Synthese der Enzyme, die für den Abbau der Lipidspeicher benötigt werden. Glucocorticoide wirken synergistisch mit Katecholaminen, die Cortisolbiosynthese wird durch gesteigerten Sympathikotonus, mittels Stimulation der CRH- Sekretion, gefördert. Über negative Rückkopplung wirkt Cortisol in der Hypophyse hemmend auf die ACTH- Freisetzung, sowie im Hypothalamus hemmend auf die CRH- Freisetzung [41].

### 2.3.2 Physiologie der Haarcortisolwerte

Die Wachstumsrate der Haare beträgt im Durchschnitt einen cm pro Monat. Damit erlaubt die Analyse von einem cm Haar vom Ansatz beginnend einen Rückblick über den Cortisolspiegel des letzten Monats. Cortisol diffundiert aus der Blutbahn mit anderen hämatogenen Substanzen in die Zellen des Haarfollikels und wird allmählich in den wachsenden Haarschaft abgeschieden [42]. Zudem ist der Haarfollikel selbst in der Lage nach Stimulation durch CRH Cortisol zu synthetisieren und zu sezernieren [43]. Die Haarstruktur (welliges, lockiges oder glattes Haar) hat keinen Einfluss auf die HCC [44]. Weiterhin beeinflusst die natürliche Haarfarbe den Haarcortisolwert

nicht [5]. Allerdings verursacht künstlich- gefärbtes Haar erniedrigte Cortisolwerte (ca. 30-60% niedriger), ebenso wie starke Hitzebelastung (ca. 20% niedriger) [45].

## 2.4 Die LIFE Child Studie

### 2.4.1 Studiendesign und Ziele

Die teilnehmenden Probanden stammen aus der LIFE Child- Studie, einer prospektiven, longitudinalen Kohortenstudie, welche Teil des „Leipziger Forschungszentrums für Zivilisationserkrankungen“ (LIFE) der Universität Leipzig ist. Die teilnehmenden Kinder im Alter von 0 bis 18 Jahren aus dem Großraum Leipzig wurden über Öffentlichkeitsarbeit, das Gesundheitsamt, die Ambulanz des Kinderklinikums der Universität Leipzig oder ihren Kinderarzt auf die Studie aufmerksam. Das Ziel von LIFE Child ist die Untersuchung von Zivilisationserkrankungen wie Allergien, Adipositas, Diabetes und Herz-Kreislauf-Krankheiten [46–48]. Weiterhin werden Umwelteinflüsse und Lebensgewohnheiten der Kinder beobachtet, um ihren Einfluss auf die Gesundheit zu verstehen. Daher werden seit 2011 bei Neugeborenen, Kindern und Jugendlichen anthropometrische, labordiagnostische und soziodemographische Merkmale erfasst. Für unsere Arbeit wurden ausschließlich gesunde Probanden eingeschlossen. Die LIFE Child- Studie ist von der Ethikkommission der Universität Leipzig zugelassen (Aktenzeichen: Reg. Nr. 264-10-19042010). Für die Untersuchungen werden die schriftlichen Einverständniserklärungen der Eltern und ab einem Alter von 12 Jahren, zusätzlich von den Kindern selbst, abverlangt.

#### 2.4.2 Anthropometrische Datenbestimmung bei Kindern in der LIFE Child Studie

Die Anthropometrie ist definiert als die Lehre der Ermittlung und Anwendung der Maße des menschlichen Körpers. In der LIFE Child- Studienambulanz wird bei den teilnehmenden Kindern genau eine solche durchgeführt [48]. Dabei erfolgt die Ermittlung des Gewichts, der Höhe im Stehen und im Sitzen und einer Messung von Kopf-, Hals-, Taille-, Bauch-, Oberarm- und Oberschenkel- sowie Wadenumfang. Danach erfolgt die Hautfaltenbestimmung mittels Kaliperzange an Vorder- und Rückseite des Armes, unterhalb des Schulterblatts sowie auf der mittleren Axillarlinie zwischen letzter Rippe und Crista iliaca. Im Anschluss werden Blutdruck und Puls dreimal gemessen. Weiterhin kann eine Bio-Impedanz- Analyse (BIA) durchgeführt werden. Dafür werden Elektrodenkleber an Händen und Füßen angebracht und darüber ein nicht wahrnehmbarer Strom durch den Körper geleitet. Damit ermitteln wir:

- Körperwasser (TBW), Total body water
- Fettfreie Masse (FFM), Fat free mass
- Magermasse (LBM), Lean body mass
- Fettmasse (FM), Fat mass
- Körperzellmasse (BCM), Body cell mass
- Extrazelluläre Masse (ECM), Extracellular mass

Dabei wird die Auswertung der anthropometrischen Daten bei Kindern immer mittels Perzentilen durchgeführt, um vor allem Körpergröße und Körpergewicht im entsprechenden Alter des Kindes einzuschätzen. Diese Perzentilenkurven beruhen auf den Werten großer Vergleichskollektive.

Die Angabe von Körpergröße und -gewicht in einer Perzentile dient dem Vergleich von Altersgenossen und der Abschätzung, wieviele Kinder größer bzw. kleiner sind [48].

## 2.5 Hypothesen, Frage- und Zielstellungen

Aus oben beschriebener Problematik geht hervor, dass die HCC des Kindes in der gegenwärtigen Forschung immer größere Relevanz im Hinblick auf Störungen der HPA- Achse, psychische Erkrankungen oder der Stress- Forschung hat. Natürliche Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht, Gewicht oder der SES des Kindes wurden bisher wenig untersucht, noch weniger der Einfluss des Pubertätsstatus des Kindes. Ziel unserer Arbeit war die Analyse des Einflusses anthropometrischer und sozioökonomischer Faktoren auf die Konzentration des Cortisols im kindlichen Haar. Folgende Hypothesen und Fragestellungen wurden formuliert:

1. Gibt es einen Zusammenhang zwischen zunehmendem Alter und der Konzentration des Haarcortisols?
2. Wie verhält sich die HCC in den verschiedenen Pubertätsstadien bei Mädchen und Jungen? Gibt es geschlechterbedingte Unterschiede in den einzelnen Pubertätsabschnitten?
3. Wie wirken sich unterschiedliche sozioökonomische Faktoren, wie elterliches Gehalt, Berufsstand oder Bildungsstand auf die Konzentration des Haarcortisols aus?
4. Beeinflusst der BMI die HCC?



### **3 Originalartikel**

Titel: Hair Cortisol Concentration in Healthy Children and Adolescents Is Related to Puberty, Age, Gender, and Body Mass Index

Autoren: Maximiliane Wagner, Jürgen Kratzsch, Mandy Vogel, Thomas Peschel, Alexander Gaudi, Uta Ceglarek, Joachim Thiery, Andreas Hiemisch, Antje Körner, Wieland Kiess

Journal: Hormone Research in Paediatrics

# Hair Cortisol Concentration in Healthy Children and Adolescents Is Related to Puberty, Age, Gender, and Body Mass Index

Maximiliane Wagner<sup>a,b</sup> Jürgen Kratzsch<sup>c</sup> Mandy Vogel<sup>a,b</sup> Thomas Peschel<sup>a,b</sup>  
Alexander Gaudl<sup>c</sup> Uta Ceglarek<sup>c</sup> Joachim Thiery<sup>c</sup> Andreas Hiemisch<sup>a,b</sup>  
Antje Körner<sup>a,b</sup> Wieland Kiess<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Department of Women & Child Health, Hospital for Children and Adolescents, Centre for Paediatric Research, Leipzig University, Leipzig, Germany; <sup>b</sup>LIFE-Child-Leipzig Research Centre for Civilization Diseases, Leipzig University, Leipzig, Germany; <sup>c</sup>Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Leipzig University, Leipzig, Germany

## Keywords

Hair cortisol · Children · Tanner stages · Socioeconomic status · Body mass index · Gender

## Abstract

**Introduction:** Hair cortisol concentrations (HCC) have been found to be related to various common childhood diseases, like otitis media, conjunctivitis, respiratory viral infections, and asthma. However, the confounding effects of age, gender, body mass index (BMI), pubertal stage (Tanner stages), socioeconomic status (SES) as well as of some hair maintenance procedures on HCC are still not well examined. **Methods:** A population-based cohort of 434 children aged between 5 and 18 years was examined for HCC between January 2012 and February 2015 in the context of the Leipzig Research Centre for Civilization Diseases (LIFE) Child study. Thereby, anthropometric data, gender, BMI, SES and pubertal status were assessed. HCC was measured by liquid chromatography mass spectrometry. **Results:** In the total cohort, HCC levels ranged between 0.95 and 29.86 pg/mg. In prepuberty, boys showed significantly higher HCC than girls (6.54 vs. 3.73 pg/mg,  $p < 0.05$ ). During puberty HCC values in both genders converged. Higher BMI was significantly associated with higher HCC in both genders. In girls, HCC did not differ

depending on Tanner stages. In boys, HCC was significantly higher in Tanner stage 1 than in stages 2–5. **Conclusion:** Measuring cortisol concentration in hair gives information about long-term release of cortisol. We have found that puberty, gender, and BMI had a profound effect on HCC. As a result, further research should take into account the potentially confounding role of puberty, gender and BMI and may use the results of our study as a reference at determining values of HCC in healthy children.

© 2019 S. Karger AG, Basel

## Introduction

Cortisol as a steroid hormone is an essential factor in the regulation of anti-stress and anti-inflammatory pathways. In psychoneuroendocrinological research, cortisol is used as a marker of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis activity [1, 2]. The release of cortisol is subject to short-term variation caused by stress experiences. In addition, it follows a circadian rhythm: cortisol release increases in the morning (the cortisol awakening response) and gradually decreases across the rest of the day [3]. Since measuring cortisol in saliva and serum is subject to this short-term variability, the glucocorticoid stress hormone

cortisol is more and more measured from hair samples to assess the retrospective medium- and long-term stress exposure. Especially in young patients, methods like repeated sampling are rather invasive or challenging to achieve (e.g., 24-h urine sampling). Following, the cumulative cortisol secretion over 1–2 months is accepted as a promising method of detecting long-term reactions [1]. Moreover, the plasma and urine results are difficult to interpret because cortisol levels might be affected by smoking, eating, or temporary stress [4]. In contrast, the assessment of the cumulative cortisol secretion from hair is less invasive and more convenient for children and adolescents [1, 5, 6]. However confounding factors like age, body mass index (BMI), pubertal stage, socioeconomic status (SES), and gender are still not well examined. Therefore, we have asked whether hair cortisol concentration (HCC) relates to SES, age, BMI, pubertal stage, gender, and hair washing frequency on HCC in children.

Cortisol diffuses from the bloodstream with other blood-borne substances into the cells of the hair follicle and is deposited gradually in the growing hair shaft [7–9]. The growth of hair is on average 1 cm per month; thus, measurement in hair allows a retrospective insight into cortisol production of the last months [4, 10]. Earlier studies showed a correspondence between levels of hair cortisol concentration (HCC) and 24-h urine collection [11] and a high test-retest reliability of hair cortisol in the same subjects [12]. In adults, similar to cortisol in saliva and serum, hair cortisol levels are significantly higher in men than in women [1, 13, 14]. This result could only be reproduced partially in children, where some studies showed a higher HCC in male children [1, 15], others found no significant difference [15–17].

According to Noppe et al. [5], cortisol levels increase with increasing age up to the age of 10. Groeneveld et al. [16] found significantly higher HCC in healthy children after school entry than before school entry, which indicates that rising levels may be triggered by external factors rather than biological development, a hypothesis also supported by a study showing the level of education of parents and single-parenthood to be associated with HCC of preschool children [18, 19]. Later, children undergo developmental variations regarding cortisol levels in dependence on puberty as was shown by Kang et al. [2]. Studies on the relationship of BMI and HCC in children presented rising HCC levels with increasing BMI. Obese children, in particular, showed elevated HCC levels in comparison to their normal weight controls [20–23].

The frequency of hair wash showed no statistically significant influence on HCC [5, 16]. Moreover, there is no

relationship between the natural hair color and HCC [24, 25], but Gaudl et al. [26] examined that cortisol concentration suffered from significant loss due to heat or bleaching. Seasonal effects with higher hair cortisol levels in summer and autumn compared to winter have also been shown [1, 6, 14].

There are a lot of conflicting findings, especially regarding children. This may be due to different measuring methods of hair cortisol and distorting influences, such as artificial hair color and extreme heating of hair. To highlight, we used reliable and precise liquid chromatography mass spectrometry LC-MS/MS (LC-MS<sup>3</sup>) for our analyses and only included children with natural hair, because it is known that applying heat and artificial coloring results in determining HCC [26]. The aim of this study was to examine associations of age, gender, BMI, SES, puberty, and hair washing frequency with HCC to identify potential confounders for analyses involving HCC.

## Methods and Material

### Study Design

The LIFE Child study, as part of the Leipzig Research Centre of Civilization Diseases (LIFE), is a prospective longitudinal cohort study which started in 2011 [27, 28]. Children from across Leipzig (Germany) were recruited via public advertisement and directly in pediatrician practice. The aims of the LIFE study are to describe the growth and development of children from the prenatal period to adulthood as well as to explore the environmental determinants of health [29]. We selected a subsample of 461 subjects aged between 5 and 18 years for the determination of HCC. For sampling, subgroups were stratified by puberty status to achieve a sample that is as balanced as possible. Colored or treated hair (hairspray or hair gel) was excluded from analyses because of potential biases in measurement values [26]. Further, 24 children were excluded because of glucocorticoid or mineralocorticoid medication. After determination, three values were excluded because log<sub>10</sub> cortisol was higher than 3 standard deviations. Finally, we included 434 children in the full analysis set. A summary of the characteristics of the final sample stratified by gender is shown in Table 1.

### Phenotypical Characteristics

Parents reported their children's hair washing frequency, hair coloration, usage of hairspray or gel, as well as time since last wash. SES was assessed through a questionnaire. To obtain a measure of parents' SES, parents were asked to provide information on their education (graduation and professional qualification), their occupational status, and their monthly net income. This information was combined as described in Herrmann et al. [30], the so-called Winkler index, and categorized into low, mid, and high. Height and weight were measured by trained and certified staff in standardized procedures. The pubertal status was assessed according to Tanner [31].



**Table 1.** Characteristics of the total sample and according to gender

Characteristics	Sample	Female	Male
Total, <i>n</i>	434	267	167
Age, mean (range), years	11.98 (5.54–17.95)	11.36 (5.54–17.95)	12.37 (5.56–17.56)
BMI, <i>n</i> (%)			
Underweight	30 (6.91)	18 (6.74)	12 (7.19)
Normal weight	324 (74.7)	200 (74.9)	124 (74.3)
Overweight	37 (8.53)	29 (10.9)	8 (4.79)
Obese	43 (9.91)	20 (7.49)	23 (13.8)
Tanner stage, <i>n</i> (%)			
1	82 (18.9)	41 (15.4)	41 (24.7)
2	85 (19.6)	40 (15.0)	45 (27.1)
3	85 (19.6)	60 (22.5)	25 (15.1)
4	90 (20.8)	58 (21.7)	32 (19.3)
5	91 (21.0)	68 (25.5)	23 (13.9)
Winkler index, <i>n</i> (%)			
Low	52 (12.7)	32 (12.6)	20 (12.9)
Mid	225 (55.2)	140 (55.3)	85 (54.8)
High	131 (32.1)	81 (32.0)	50 (32.3)

#### Hair Sample Collection

A strand of 1 cm of hair was cut off as close as possible to the scalp from the parietal/occipital back of the head. Then, the proximal end was used. This area is supposed to be less influenced by interweaving or tangle [5]. The hairline close part was marked, and the hair curl was stored in aluminum foil in a clear plastic folder at room temperature until further analyses.

#### Hair Cortisol Analysis

The LC-MS/MS method used for analysis has been described in detail [27]. In brief, 10–20 mg of hair was washed with water and acetone and subsequently incubated with methanol for 24 h for extraction. Methanol was evaporated, the residue reconstituted in water and injected into the LC-MS/MS system. It consisted of a Prominence UFLC system from Shimadzu (Duisburg, Germany) coupled to a QTRAP® 6500 from Sciex (Framingham, MA, USA). Chromatographic separation took place on a Chromolith® high resolution column (RP-18, 25 × 4.6 mm) from Merck (Darmstadt, Germany) using a water/methanol/ammonium fluoride system as mobile phase. Detection was carried out using negative ionization via electrospray and two-stage fragmentation via chemically induced dissociation and resonance excitation (MS<sup>3</sup>). In this study we used LC-MS<sup>3</sup> for our analyses because it is considerably more specific in cortisol analytics than LC-MS<sup>2</sup> [26].

#### Statistical Analysis

Preparation and analyses of data were done using the free statistical software R version 3.1.2 [32]. Because of their considerable skewness, HCC were log-transformed before further statistical analysis. To examine associations of potential influencing factors, simple and multiple linear regression analyses were

done using log<sub>10</sub> cortisol as the outcome and SES, gender, age, BMI and pubertal status as predictor variables. Linear regression coefficient, the confidence interval, and *p* values were noted.

## Results

#### Characteristics of the Study Cohort

In our study, a subgroup of 461 samples of children has been used. Exclusion criteria were glucocorticoid or mineralocorticoid medication (*n* = 24). After exclusion of 3 outliers (log<sub>10</sub> cortisol >threefold standard deviation) we included 434 children with measured hair cortisol in the age between 5 and 18 years. A comparison of characteristics age, BMI, Tanner stages, and Winkler index of the final sample, stratified by gender is shown in Table 1. Medians and interquartile ranges (IQR) of HCC for Tanner stage and BMI in females and males are shown in Table 2.

#### Hair Cortisol Increases with Higher BMI, Male Gender, Age, and Levels of Puberty

##### Body Mass Index

The final sample consisted of 74.7% normal-weight, 6.91% underweight, 8.53% overweight, and 9.91% obese children. In our cohort sample, higher BMI SDS was significantly associated with higher HCC in both sexes

**Table 2.** Medians and IQR of HCC for Tanner stage and BMI

Characteristics	Median cortisol, pg/mg		<i>p</i>	IQR	
	female	male		female	male
Tanner stage					
1	3.73	6.54	<0.01	2.53	5.66
2	3.18	4.18	0.10	1.58	2.66
3	3.49	3.56	0.80	3	2.72
4	3.62	2.97	0.07	1.73	1.89
5	4.96	4.17	0.90	3.96	1.93
BMI (percentile)					
Underweight (<P <sub>10</sub> )	3.23	5.16	<0.05	2.13	3.32
Normal weight	3.81	4.46	0.09	2.96	3.66
Overweight (>P <sub>90</sub> )	4.01	3.72	0.70	3.11	2.79
Obese (>P <sub>97</sub> )	4.13	4.13	0.40	2.1	4.25

*p* values for gender differences.

(beta = 0.03,  $p < 0.05$ ). This distribution represents approximately the distribution of BMI in German children; obese children were slightly overrepresented [33].

#### Gender

The distribution of both genders in each Tanner stage was comparable, whereas in higher Tanner stages, the ratio of the girls increased (Tanner 5: 68 girls, 23 boys). Concerning this variation, in males, the IQR of HCC decreases with advancing puberty; in girls the IQR was roughly similar in all Tanner stages. The most striking gender-dependent difference in HCC was shown in prepuberty, where males had a significantly higher HCC than girls; the comparison of boys versus girls showed values of 6.54 and 3.73 pg/mg in Tanner 1 (beta = 0.22,  $p < 0.05$ ). Taken all pubertal stages into account, a significant difference in HCC between males and females becomes apparent.

#### Puberty

The values of boys decreased continuously until Tanner 4 and increased afterward. They showed significantly higher ( $p < 0.05$ ) HCC in Tanner 1 than Tanner 2–5 (Tanner 1: 6.54 pg/mg vs. Tanner 2: 4.18 pg/mg (beta = 0.3), Tanner 3: 3.56 pg/mg (beta = 0.4), Tanner 4: 2.97 pg/mg (beta = 0.5), Tanner 5: 4.17 pg/mg (beta = 0.4). The values in girls decreased less markedly than in boys and reached their nadir at Tanner 2, followed by a small increase afterwards. Thus, girls reached the highest HCC in Tanner stage 5, the lowest in Tanner 2. However, in girls, there

was no significant difference in HCC if the values of the Tanner stages were compared (Tanner 1: 3.73 pg/mg, Tanner 2: 3.18 pg/mg, Tanner 3: 3.49 pg/mg, Tanner 4: 3.62 pg/mg, Tanner 5: 4.96 pg/mg). The effects are shown in Figures 1 and 2.

#### Multiple Adjusting

To avoid interference of puberty, we observed the relation between HCC and age in prepuberty in Tanner 1. In prepubertal children, we detected a positive but not significant tendency of HCC with increasing age (beta = 0.06,  $p > 0.05$ ). The frequency of hair washing showed no significant effect on HCC, boys washed slightly more often their hair, but not significantly (beta ≤ 0.03,  $p > 0.05$ ). After considering pubertal stages as confounder, age was slightly positively but nonsignificantly associated with HCC (beta = 0.02,  $p > 0.05$ ) in females and males.

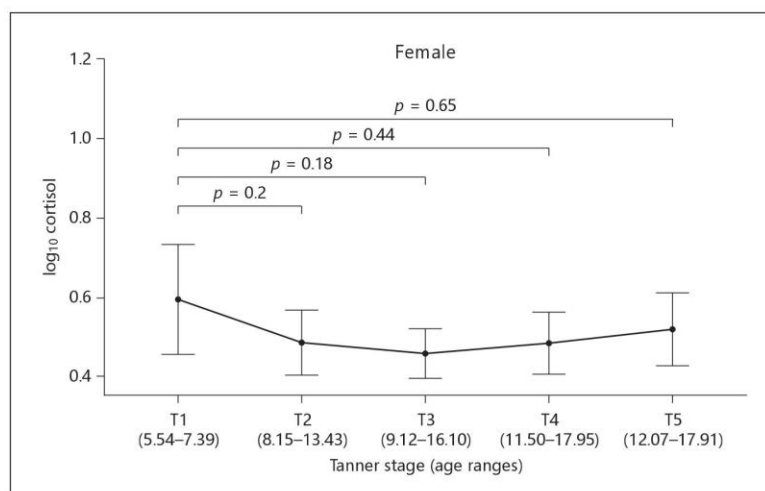
#### HCC Did Not Relate to SES

We found no significant relationship between HCC and SES, either regarding the combined index (group differences of HCC <0.4 pg/mg,  $p > 0.05$ ) or the individual SES parameters. This holds for boys as well as for girls.

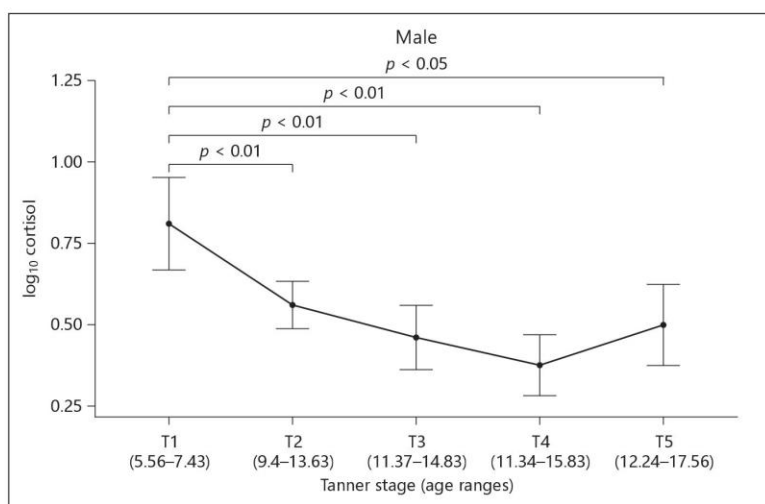
#### Discussion

In this subgroup analysis of a population-based cohort ( $n = 434$ ), we demonstrated significant associations between HCC, age, BMI, pubertal stage, and gender.

**Fig. 1.** Hair cortisol levels ( $\log_{10}$ ) for Tanner stages 1–5 with age ranges and  $p$  values in healthy girls.



**Fig. 2.** Hair cortisol levels ( $\log_{10}$ ) for Tanner stages 1–5 with age ranges and  $p$  values in healthy boys.



#### Body Mass Index

A higher BMI-SDS was significantly associated with higher HCC. Chronic stress appears to play a significant role in the development of obesity [34]. On the one hand, it is intended to influence the eating behavior, on the other hand, it influences the body constitution [35]. In adults, this effect is already known. Kistenmacher et al. [36] showed a positive influence of psychosocial stress on serum cortisol concentration and food intake of participants. Moreover, glucocorticoids stimulate appetite, and therapeutic use of glucocorticoids leads to weight gain [37]. Additionally, increasing HCC levels were linked to

increasing risk of metabolic syndrome and cardiovascular diseases in adults [38, 39]. Interestingly, HCC correlated also with Cushing syndrome, which often co-occurs with obesity [40]. These findings show a close relationship between cortisol and obesity-related parameters. HCC is a marker of long-term systemic cortisol exposure. Therefore, we suggest a long-term activation of the HPA axis in obese children.

#### Gender

Similar to other studies, we found that boys had higher HCC than girls. To date, the influence of gender on the



HPA axis is not completely understood. Preclinical data of Bangasser and Valentino [41] showed sex differences in several cellular and molecular mechanisms, including cell signaling, peptide expression, hormone release, receptor trafficking, synaptogenesis, and dendritic remodeling. Furthermore, sex differences in behavioral, physiological as well as neural levels during stress have been reported [42]. In further research, the sexual dimorphic HPA axis has been reported in adults [43]. A study of 20 men and 61 women exposed to the Trier Social Stress Test (TSST) showed that ACTH responses in women were lower and accompanied by smaller rises in cortisol concentrations [44, 45].

This effect was also seen in children: girls had significantly lower HCC than boys [1, 15]. In our study, we could corroborate this effect; however, this difference is most pronounced in the prepubertal stage.

Sex differences in the HPA axis might be due to several mechanisms, in general interactions between the HPA axis and HPG (hypothalamic-pituitary-gonadal) axis [46]. Sex hormones influence the CRH genes in the hypothalamus. Moreover, they might sensitize the pituitary, which releases ACTH [47]. However, the pathomechanism is still unclear. To manifest, a lot of further research presented data of HCC in children and postulated higher cortisol in boys than girls. The large review by Gray et al. [15] about determinants of hair cortisol in children did not show higher hair cortisol in girls than boys in any of the 17 studies, but the pathomechanism was not evaluated. Further research is still needed to identify the background of gender-specific changes in hair cortisol.

#### *Puberty*

Gonadal steroids are able to differentially influence the HPA axis, resulting in sex differences in the responsivity of this axis [48]. However, the influence of puberty-related changes on the HPA axis is not very well known. Interestingly, our results have shown a significant association between puberty and HCC, and especially boys in prepuberty reached higher HCC. During puberty, the values of girls and boys converge. After prepuberty, the values of HCC decreased and increased again after Tanner 4 in boys and Tanner 3 in girls, whereas this trend was less pronounced in girls.

During puberty HPA/HPG axis interactions fluctuate and so do levels of estradiol. Especially across the menstrual cycle levels of estradiol vary widely and therefore, play a role in sex-specific changes in HPA axis reactivity during puberty [46].

#### *Age*

We identified increasing HCC values with increasing age, but this was not significant. We suppose that effect of puberty is more important, and age adds only negligible information beyond the information already carried by pubertal stage. However, because of the high intercorrelation between age and pubertal stage, it is difficult to separate both effects. Therefore, we examined the relation of HCC and age in prepubertal children (Tanner 1) to eliminate the interaction with puberty stage as a confounder on HCC. HCC values increased in parallel to increasing age, but not significantly. Recent studies about the correlation between age and HCC differed distinctly. Whereas most of the studies did not find a significant relationship between age and HCC [1, 17, 49, 50], Noppe et al. [5] showed increasing HCC with increasing age up to 10 years [5, 51].

#### *Socioeconomic Status*

Whereas some previous studies described significant associations between HCC and SES [18, 52], we could not observe them. Even if parameters of the SES index were considered individually, as it is in the study of Rippe et al. [1], there was no significant interaction. This could be due to the small sample size of children with lower SES, especially after excluding children with dyed hair, which was associated with lower SES. Moreover, the hair washing frequency did not show a significant effect on HCC.

#### *Methods*

In our study, HCC was measured by liquid chromatography mass spectrometry. In a recent review about measuring HCC in children by Gray et al. [15], 25% of all studies used liquid chromatography mass spectrometry, while the remaining majority of researchers used immunoassays. As a result, the values were often not comparable due to methodological differences. Even if only liquid chromatography mass spectrometry was used, there were differences in sample processing and slightly different work steps, which make it difficult to compare absolute values [1, 15]. In consequence, the comparison of relative differences is more reliable.

Based on our results, puberty, gender, and BMI should be considered as important confounders for the estimation of cortisol as a biomarker of stress response in children and adolescents.

#### *Limitations of the Study*

Some limitations apply to the current study. There was an excess of girls compared to boys in the distribution of

the samples for our study. Thus, in Tanner stage 4 and 5 distinctly more girls than boys took part in our analyses (Tanner 5: 68 girls, 23 boys). This effect is often seen in studies, with increasing puberty the number of participating boys decreases. Furthermore, dyed hair was one of the exclusion criteria. Due to the significant association between lower SES and dyed hair, more children with middle and high SES than with low SES were included in the full analysis.

## Conclusion

Measuring cortisol concentration in hair gives information about long-term release of cortisol. We have found that puberty, gender, and BMI had a profound effect on HCC. As a result, the potentially confounding role of puberty, gender, and BMI should be considered in further research, and the present data can therefore be helpful as a reference for determining HCC values in healthy children. The influence of ethnicity and hair color on HCC, as shown in previous investigations [1, 53], may be of interest for further research to obtain a more global overview.

## References

- Rippe RC, Noppe G, Windhorst DA, Tiemeier H, van Rossum EF, Jaddoe VW, et al. Splitting hair for cortisol? Associations of socioeconomic status, ethnicity, hair color, gender and other child characteristics with hair cortisol and cortisone. *Psychoneuroendocrinology*. 2016 Apr;66:56–64.
- Kang JY, Park JY, Chun SI, Suh HS, Lee K, Ahn RS. Puberty-related changes in cortisol, dehydroepiandrosterone, and estradiol-17 $\beta$  secretions within the first hour after waking in premenarcheal girls. *Neuroendocrinology*. 2014;99(3-4):168–77.
- King LS, Colich NL, LeMoult J, Humphreys KL, Ordaz SJ, Price AN, et al. The impact of the severity of early life stress on diurnal cortisol: the role of puberty. *Psychoneuroendocrinology*. 2017 Mar;77:68–74.
- Stalder T, Kirschbaum C. Analysis of cortisol in hair—state of the art and future directions. *Brain Behav Immun*. 2012 Oct;26(7):1019–29.
- Noppe G, Van Rossum EF, Koper JW, Maenschiin L, Bruining GJ, de Rijke YB, et al. Validation and reference ranges of hair cortisol measurement in healthy children. *Horm Res Paediatr*. 2014;82(2):97–102.
- Braig S, Grabher F, Ntomchukwu C, Reister F, Stalder T, Kirschbaum C, et al. Determinants of maternal hair cortisol concentrations at delivery reflecting the last trimester of pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Feb;52:289–96.
- Cone EJ. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Ther Drug Monit*. 1996 Aug;18(4):438–43.
- Gao W, Xie Q, Jin J, Qiao T, Wang H, Chen L, et al. HPLC-FLU detection of cortisol distribution in human hair. *Clin Biochem*. 2010 May;43(7-8):677–82.
- Kirschbaum C, Tietze A, Skoluda N, Dettenborn L. Hair as a retrospective calendar of cortisol production-Increased cortisol incorporation into hair in the third trimester of pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*. 2009 Jan;34(1):32–7.
- Meyer JS, Novak MA. Minireview: Hair cortisol: a novel biomarker of hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity. *Endocrinology*. 2012 Sep;153(9):4120–7.
- Sauve B, Koren G, Walsh G, Tokmakejian S, Van Uum SH. Measurement of cortisol in human hair as a biomarker of systemic exposure. *Clin Invest Med*. 2007;30(5):91.
- Stalder T, Steudte S, Miller R, Skoluda N, Dettenborn L, Kirschbaum C. Intraindividual stability of hair cortisol concentrations. *Psychoneuroendocrinology*. 2012 May;37(5):602–10.
- Russell E, Koren G, Rieder M, Van Uum S. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*. 2012 May;37(5):589–601.
- Staufenbiel SM, Penninx BW, de Rijke YB, van den Akker EL, van Rossum EF. Determinants of hair cortisol and hair cortisone concentrations in adults. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Oct;60:182–94.
- Gray NA, Dhana A, Van Der Vyver L, Van Wyk J, Khumalo NP, Stein DJ. Determinants of hair cortisol concentration in children: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology*. 2018 Jan;87:204–14.
- Groeneveld MG, Vermeer HJ, Linting M, Noppe G, van Rossum EF, van IJendoorn MH. Children's hair cortisol as a biomarker of stress at school entry. *Stress*. 2013 Nov;16(6):711–5.
- Kamps AW, Molenmaker M, Kemperman R, van der Veen BS, Bocca G, Veeger NJ. Children with asthma have significantly lower long-term cortisol levels in their scalp hair than healthy children. *Acta Paediatr*. 2014 Sep;103(9):957–61.
- Vaghri Z, Guhn M, Weinberg J, Grunau RE, Yu W, Hertzman C. Hair cortisol reflects socio-economic factors and hair zinc in pre-schoolers. *Psychoneuroendocrinology*. 2013 Mar;38(3):331–40.

## Acknowledgements

This publication is supported by LIFE – Leipzig Research Centre for Civilization Diseases, Leipzig University.

## Statement of Ethics

All participants and their parents joined voluntarily, were informed about the purpose of the study and gave consent to data collection and analysis. Data were pseudonymized. The study was approved by the Ethical Committee of the University of Leipzig (Reg. No. 264-10-19042010). The LIFE Child study is registered with the trial number NCT02550236.

## Disclosure Statement

There are no competing interests to declare.

## Funding Sources

LIFE is funded by means of the EU, by the European Regional Development Fund (ERDF) and by means of the Free State of Saxony within the framework of the excellence initiative.



- 19 Karlén J, Frostell A, Theodorsson E, Faresjö T, Ludvigsson J. Maternal influence on child HPA axis: a prospective study of cortisol levels in hair. *Pediatrics*. 2013 Nov;132(5):e1333–40.
- 20 Marceau K, Dorn LD, Susman EJ. Stress and puberty-related hormone reactivity, negative emotionality, and parent–adolescent relationships. *Psychoneuroendocrinology*. 2012 Aug;37(8):1286–98.
- 21 Tsai SL, Seiler KJ, Jacobson J. Morning cortisol levels affected by sex and pubertal status in children and young adults. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2013;5(2):85–9.
- 22 Veldhorst MA, Noppe G, Jongejan MH, Kok CB, Mekic S, Koper JW, et al. Increased scalp hair cortisol concentrations in obese children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Jan;99(1):285–90.
- 23 Wester VL, Staufenbiel SM, Veldhorst MA, Visser JA, Manenschi L, Koper JW, et al. Long-term cortisol levels measured in scalp hair of obese patients. *Obesity (Silver Spring)*. 2014 Sep;22(9):1956–8.
- 24 Dettlenborn L, Tietze A, Kirschbaum C, Stalder T. The assessment of cortisol in human hair: associations with sociodemographic variables and potential confounders. *Stress*. 2012 Nov;15(6):578–88.
- 25 Chan J, Sauvé B, Tokmakejian S, Koren G, Van Uum S. Measurement of cortisol and testosterone in hair of obese and non-obese human subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2014 Jun;122(6):356–62.
- 26 Gaudl A, Kratzsch J, Bae YJ, Kiess W, Thiery J, Ceglarek U. Liquid chromatography quadrupole linear ion trap mass spectrometry for quantitative steroid hormone analysis in plasma, urine, saliva and hair. *J Chromatogr A*. 2016 Sep;1464:64–71.
- 27 Scharlau F, Pietzner D, Vogel M, Gaudl A, Ceglarek U, Thiery J, et al. Evaluation of hair cortisol and cortisone change during pregnancy and the association with self-reported depression, somatization, and stress symptoms. *Stress*. 2018 Jan;21(1):43–50.
- 28 Poulain T, Baber R, Vogel M, Pietzner D, Kirsten T, Jurkutat A, et al.; LIFE Child study team. The LIFE Child study: a population-based perinatal and pediatric cohort in Germany. *Eur J Epidemiol*. 2017 Feb;32(2):145–58.
- 29 Quante M, Hesse M, Döhnert M, Fuchs M, Hirsch C, Sergeyev E, et al.; LIFE Child Study Investigators. The LIFE child study: a life course approach to disease and health. *BMC Public Health*. 2012 Nov;12(1):1021.
- 30 Herrmann J, Vogel M, Pietzner D, Kroll E, Wagner O, Schwarz S, et al. Factors associated with the emotional health of children: high family income as a protective factor. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2018 Mar;27(3):319–28.
- 31 Tanner JM. Growth at adolescence. *Am J Phys Anthropol*. 1956;14:120–2.
- 32 The R Development Core Team: R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- 33 Kurth BM, Schaffrath Rosario A. Die Verbreitung von Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland. *Ernährung (Wien)*. 2007;1:213–9.
- 34 Scott KA, Melhorn SJ, Sakai RR. Effects of Chronic Social Stress on Obesity. *Curr Obes Rep*. 2012 Mar;1(1):16–25.
- 35 Jackson SE, Steptoe A. Obesity, perceived weight discrimination, and hair cortisol: a population-based study. *Psychoneuroendocrinology*. 2018 Dec;98:67–73.
- 36 Kistenmacher A, Goetsch J, Ullmann D, Wardzinski EK, Melchert UH, Jauch-Chara K, et al. Psychosocial stress promotes food intake and enhances the neuroenergetic level in men. *Stress*. 2018 Jul;21(6):1–10.
- 37 Tataranni PA, Larson DE, Snitker S, Young JB, Flatt JP, Ravussin E. Effects of glucocorticoids on energy metabolism and food intake in humans. *Am J Physiol*. 1996 Aug;271(2 Pt 1):E317–25.
- 38 Manenschi L, Schaap L, van Schoor NM, van der Pas S, Peeters GM, Lips P, et al. High long-term cortisol levels, measured in scalp hair, are associated with a history of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 May;98(5):2078–83.
- 39 Stalder T, Kirschbaum C, Alexander N, Bornstein SR, Gao W, Miller R, et al. Cortisol in hair and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Jun;98(6):2573–80.
- 40 Thomson S, Koren G, Fraser LA, Rieder M, Friedman TC, Van Uum SH. Hair analysis provides a historical record of cortisol levels in Cushing's syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2010 Feb;118(2):133–8.
- 41 Bangasser DA, Valentino RJ. Sex differences in stress-related psychiatric disorders: neurobiological perspectives. *Front Neuroendocrinol*. 2014 Aug;35(3):303–19.
- 42 Kogler L, Müller VI, Seidel EM, Boubela R, Kalcher K, Moser E, et al. Sex differences in the functional connectivity of the amygdalae in association with cortisol. *Neuroimage*. 2016 Jul;134:410–23.
- 43 Kudielka BM, Kirschbaum C. Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. *Biol Psychol*. 2005 Apr;69(1):113–32.
- 44 Kajantie E, Phillips DI. The effects of sex and hormonal status on the physiological response to acute psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2006 Feb;31(2):151–78.
- 45 Kirschbaum C, Kudielka BM, Gaab J, Schommer NC, Hellhammer DH. Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosom Med*. 1999 Mar-Apr;61(2):154–62.
- 46 Hollanders JJ, van der Voorn B, Rotteveel J, Finken MJ. Is HPA axis reactivity in childhood gender-specific? A systematic review. *Biol Sex Differ*. 2017 Jul;8(1):23.
- 47 Panagiotakopoulos L, Neigh GN. Development of the HPA axis: where and when do sex differences manifest? *Front Neuroendocrinol*. 2014 Aug;35(3):285–302.
- 48 Oyola MG, Handa RJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress*. 2017 Sep;20(5):476–94.
- 49 Gerber M, Endes K, Brand S, Herrmann C, Colledge F, Donath L, et al. In 6- to 8-year-old children, hair cortisol is associated with body mass index and somatic complaints, but not with stress, health-related quality of life, blood pressure, retinal vessel diameters, and cardiorespiratory fitness. *Psychoneuroendocrinology*. 2017 Feb;76:1–10.
- 50 Simmons JG, Badcock PB, Whittle SL, Byrne ML, Mundy L, Patton GC, et al. The lifetime experience of traumatic events is associated with hair cortisol concentrations in community-based children. *Psychoneuroendocrinology*. 2016 Jan;63:276–81.
- 51 White LO, Ising M, von Klitzing K, Sierau S, Michel A, Klein AM, et al. Reduced hair cortisol after maltreatment mediates externalizing symptoms in middle childhood and adolescence. *J Child Psychol Psychiatry*. 2017 Sep;58(9):998–1007.
- 52 Ursache A, Merz EC, Melvin S, Meyer J, Noble KG. Socioeconomic status, hair cortisol and internalizing symptoms in parents and children. *Psychoneuroendocrinology*. 2017 Apr;78:142–50.
- 53 Abell JG, Stalder T, Ferrie JE, Shipley MJ, Kirschbaum C, Kivimäki M, et al. Assessing cortisol from hair samples in a large observational cohort: the Whitehall II study. *Psychoneuroendocrinology*. 2016 Nov;73:148–56.

## **4 Zusammenfassung**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

# **Zusammenhänge zwischen sozioökonomischen und anthropometrischen Daten und der Cortisolkonzentration im Haar gesunder Kinder**

eingereicht von

Maximiliane Wagner

angefertigt an der

Universität Leipzig

betreut von

Prof. Dr. Wieland Kiess

Prof. Dr. Jürgen Kratzsch

Cortisol gilt als ein wichtiges Stresshormon und ist das Endprodukt der Hypothalamus - Hypophysen - Achse (HPA). Die Sekretion folgt einer zirkadianen Rhythmik. Die herkömmliche Bestimmung des Cortisolspiegels im Speichel, Serum oder Urin stellt daher nur eine Momentaufnahme dar, beeinflusst von Tageszeit und aktuellem Stress. Dahingegen bietet die Messung der Haarcortisolkonzentration (HCC) die Möglichkeit zur retrospektiven Analyse der kumulativen Cortisolsekretion in den letzten Monaten.

Vorangegangene Studien beschreiben Zusammenhänge zwischen HCC und physischer oder psychischer Krankheiten im Hinblick auf Störungen der HPA-Achse bei Kindern. Auch in der gegenwärtigen Stressforschung erlangt die HCC eine immer größere Relevanz. Dabei scheinen natürliche Einflussfaktoren jedoch nur wenig

berücksichtigt. Bisherige Untersuchungen konnten zwar zeigen, dass Alter, Geschlecht und der Body-Mass-Index (BMI) des Kindes in Verbindung mit der HCC stehen, allerdings gibt es nur wenige Studien, die sich mit dem möglichen Zusammenhang zwischen der Pubertät des Kindes und dessen Cortisolhaushalt beschäftigen.

Ziel dieser Arbeit war es daher, allgemeine anthropometrische Einflussfaktoren, wie BMI, Geschlecht oder Pubertätsstatus, sowie sozioökonomische Einflussfaktoren, wie Einkommen, Bildungsstand und Berufsstatus der Eltern in einer bevölkerungsbasierten, gesunden Kohorte auf die HCC zu untersuchen. Damit möchten wir ein evidenzbasiertes Verständnis des Parameters Haarcortisol in klinischer Diagnostik und Forschung erlangen und bisher gewonnene Erkenntnisse der HCC Forschung in einer bevölkerungsbasierten, gesunden Kohorte belegen.

Die Teilnehmer stammen aus der LIFE Child- Studie, einer prospektiven, longitudinalen Kohortenstudie, welche Teil des „Leipziger Forschungszentrums für Zivilisationserkrankungen“ (LIFE) der Universität Leipzig ist.

Die Haare der 434 teilnehmenden ProbandInnen im Alter zwischen 5 und 18 Jahren wurden parietal oder okzipital direkt am Ansatz abgeschnitten, anonymisiert und foliert gelagert. In dieser Studie erfolgte die Messung der HCC durch die Anwendung der Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS3).

Ausgeschlossen von der Analyse wurden Kinder, die Gluko- oder Mineralokortikoide einnahmen und Kinder mit gefärbten bzw. getöntem Haar.

Weiterhin wurden anthropometrische Daten wie Geschlecht, Alter, Gewicht, Größe und der Pubertätsstatus bestimmt, der Body-MassIndex (BMI) berechnet, sowie sozioökonomische Daten erhoben. Diese konnten anschließend gemeinsam mit der HCC analysiert werden.

Es zeigte sich keine signifikante Assoziation zwischen der HCC und dem sozioökonomischen Status (SES) in Jungen oder Mädchen. Auch die einzelnen betrachteten Parameter finanzielles Einkommen, Bildungs-, sowie Berufsstand der Eltern zeigten keinen signifikanten Einfluss. Im Gegensatz dazu konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Pubertät und HCC verdeutlicht werden. Jungen boten in der Präpubertät signifikant höheres HCC als Mädchen, wohin gegen sich die Messwerte im Laufe der Pubertät zunehmend angleichen. Jungen zeigten im Tannerstadium 1 die höchste HCC, sie war signifikant höher als im Tannerstadium 2-5. Die Mädchen erreichten die höchste HCC in Tannerstadium 5, wenn auch die einzelnen Stadien untereinander keine signifikanten Differenzen ergaben. Um die Assoziation zum Alter weiter zu untersuchen, ohne den Pubertätsstatus als zusätzlichen Einflussfaktor, wurde im Pubertätsstadium 1 der Alterseinfluss betrachtet. Hier zeigte sich eine positive Assoziation zur HCC ohne Signifikanz.

Bezüglich des Gewichts konnte bestätigt werden, dass mit steigendem BMI auch die HCC für beide Geschlechter anstieg. Die Haarwaschfrequenz zeigte hingegen keinen signifikanten Einfluss auf die HCC.

Mit Hilfe der Messung der HCC kann ein retrospektiver Einblick über die Stresshormonproduktion der letzten Monaten gewonnen werden. In dieser Studie wurden natürliche Einflussfaktoren identifiziert und deren Auswirkung auf die HCC dargestellt. Eine neue relevante Erkenntnis ist die Darstellung der geschlechterspezifischen Unterschiede der HCC in den einzelnen Pubertätsstadien. Weiterhin konnten bisherige Kenntnisse, wie der Einfluss des Geschlechts, des BMI, des Alters und des SES auf die HCC bestätigt werden.

Um die potentiell einflussnehmende Rolle der Anthropometrie gesunder Kinder auf die HCC zu bestätigen sind weitere Untersuchungen notwendig. Zudem ist es

interessant den Einfluss der Ethnizität auf die HCC zu betrachten, da dies in dieser Studie bei einer homogenen Kohorte kaukasischer Kinder nicht untersucht werden konnte.

## 5 Literatur

- [1] Katsu Y, Iguchi T. Cortisol. In: Handbook of Hormones. Elsevier; 2016: 533-e95D-2. doi:10.1016/B978-0-12-801028-0.00231-2
- [2] King LS, Colich NL, LeMoult J, et al. The impact of the severity of early life stress on diurnal cortisol: The role of puberty. *Psychoneuroendocrinology* 2017; 77: 68–74. doi:10.1016/j.psyneuen.2016.11.024
- [3] Noppe G, Van Rossum, Elisabeth F C, Koper JW, et al. Validation and reference ranges of hair cortisol measurement in healthy children. *Horm Res Paediatr* 2014; 82 (2): 97–102. doi:10.1159/000362519
- [4] Meyer JS, Novak MA. Minireview: Hair cortisol: a novel biomarker of hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity. *Endocrinology* 2012; 153 (9): 4120–4127. doi:10.1210/en.2012-1226
- [5] Sauve B, Koren G, Walsh G, et al. Measurement of cortisol in human hair as a biomarker of systemic exposure. *Clin Invest Med* 2007; 30 (5): 91
- [6] Stalder T, Kirschbaum C, Alexander N, et al. Cortisol in hair and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98 (6): 2573–2580. doi:10.1210/jc.2013-1056
- [7] Veldhorst MAB, Noppe G, Jongejan, Mieke H T M, et al. Increased scalp hair cortisol concentrations in obese children. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99 (1): 285–290. doi:10.1210/jc.2013-2924
- [8] Manenschijn L, Schaap L, van Schoor NM, et al. High long-term cortisol levels, measured in scalp hair, are associated with a history of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98 (5): 2078–2083. doi:10.1210/jc.2012-3663
- [9] Thomson S, Koren G, Fraser L-A, et al. Hair analysis provides a historical record of cortisol levels in Cushing's syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2010; 118 (2): 133–138. doi:10.1055/s-0029-1220771
- [10] Pereg D, Chan J, Russell E, et al. Cortisol and testosterone in hair as biological markers of systolic heart failure. *Psychoneuroendocrinology* 2013; 38 (12): 2875–2882. doi:10.1016/j.psyneuen.2013.07.015
- [11] Pereg D, Gow R, Mosseri M, et al. Hair cortisol and the risk for acute myocardial infarction in adult men. *Stress* 2011; 14 (1): 73–81. doi:10.3109/10253890.2010.511352
- [12] Stalder T, Kirschbaum C, Heinze K, et al. Use of hair cortisol analysis to detect hypercortisolism during active drinking phases in alcohol-dependent individuals. *Biol Psychol* 2010; 85 (3): 357–360. doi:10.1016/j.biopsycho.2010.08.005
- [13] Dettenborn L, Muhtz C, Skoluda N, et al. Introducing a novel method to assess cumulative steroid concentrations: increased hair cortisol concentrations over 6 months in medicated patients with depression. *Stress* 2012; 15 (3): 348–353. doi:10.3109/10253890.2011.619239
- [14] Van Uum, S H M, Sauve B, Fraser LA, et al. Elevated content of cortisol in hair of patients with severe chronic pain: a novel biomarker for stress. *Stress* 2008; 11 (6): 483–488. doi:10.1080/10253890801887388
- [15] Fridman A, van IJzendoorn MH, Sagi-Schwartz A, et al. Genetic moderation of cortisol secretion in Holocaust survivors. *International Journal of Behavioral Development* 2012; 36 (1): 79–84. doi:10.1177/0165025411406859
- [16] Yehuda R, Kahana B, Binder-Brynes K, et al. Low urinary cortisol excretion in Holocaust survivors with posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 1995; 152 (7): 982–986. doi:10.1176/ajp.152.7.982

- [17] Simmons JG, Badcock PB, Whittle SL, et al. The lifetime experience of traumatic events is associated with hair cortisol concentrations in community-based children. *Psychoneuroendocrinology* 2016; 63: 276–281. doi:10.1016/j.psyneuen.2015.10.004
- [18] Groeneveld MG, Vermeer HJ, Linting M, et al. Children's hair cortisol as a biomarker of stress at school entry. *Stress* 2013; 16 (6): 711–715. doi:10.3109/10253890.2013.817553
- [19] Pauli-Pott U, Schloß S, Ruhl I, et al. Hair cortisol concentration in preschoolers with attention-deficit/hyperactivity symptoms-Roles of gender and family adversity. *Psychoneuroendocrinology* 2017; 86: 25–33. doi:10.1016/j.psyneuen.2017.09.002
- [20] Vaghri Z, Guhn M, Weinberg J, et al. Hair cortisol reflects socio-economic factors and hair zinc in preschoolers. *Psychoneuroendocrinology* 2013; 38 (3): 331–340. doi:10.1016/j.psyneuen.2012.06.009
- [21] Karlén J, Frostell A, Theodorsson E, et al. Maternal influence on child HPA axis: a prospective study of cortisol levels in hair. *Pediatrics* 2013; 132 (5): 40. doi:10.1542/peds.2013-1178
- [22] Wester VL, Staufienbiel SM, Veldhorst MAB, et al. Long-term cortisol levels measured in scalp hair of obese patients. *Obesity (Silver Spring)* 2014; 22 (9): 1956–1958. doi:10.1002/oby.20795
- [23] Gerber M, Endes K, Brand S, et al. In 6- to 8-year-old children, hair cortisol is associated with body mass index and somatic complaints, but not with stress, health-related quality of life, blood pressure, retinal vessel diameters, and cardiorespiratory fitness. *Psychoneuroendocrinology* 2017; 76: 1–10. doi:10.1016/j.psyneuen.2016.11.008
- [24] Gray NA, Dhana A, van der Vyver L, et al. Determinants of hair cortisol concentration in children: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology* 2018; 87: 204–214. doi:10.1016/j.psyneuen.2017.10.022
- [25] Rippe RCA, Noppe G, Windhorst DA, et al. Splitting hair for cortisol? Associations of socio-economic status, ethnicity, hair color, gender and other child characteristics with hair cortisol and cortisone. *Psychoneuroendocrinology* 2015; 66: 56–64. doi:10.1016/j.psyneuen.2015.12.016
- [26] Kamps AWA, Molenmaker M, Kemperman R, et al. Children with asthma have significantly lower long-term cortisol levels in their scalp hair than healthy children. *Acta Paediatr* 2014; 103 (9): 957–961. doi:10.1111/apa.12685
- [27] Wosu AC, Gelaye B, Valdimarsdóttir U, et al. Hair cortisol in relation to sociodemographic and lifestyle characteristics in a multiethnic US sample. *Ann Epidemiol* 2015; 25 (2): 90-5, 95.e1-2. doi:10.1016/j.annepidem.2014.11.022
- [28] Mitamura R. Diurnal Rhythms of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone, Testosterone, and Estradiol Secretion before the Onset of Female Puberty in Short Children. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; 85 (3): 1074–1080. doi:10.1210/jc.85.3.1074
- [29] Abreu AP, Kaiser UB. Pubertal development and regulation. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2016; 4 (3): 254–264. doi:10.1016/S2213-8587(15)00418-0
- [30] Kuiri-Hänninen T, Sankilampi U, Dunkel L. Activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in infancy: minipuberty. *Horm Res Paediatr* 2014; 82 (2): 73–80. doi:10.1159/000362414
- [31] Kuiri-Hänninen T. \_

- [32] Apter D, Bützow T L, Laughlin G A, et al. Gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity during pubertal transition in girls: pulsatile and diurnal patterns of circulating gonadotropins.
- [33] Kang JY, Park JY, Chun SI, et al. Puberty-related changes in cortisol, dehydroepiandrosterone, and estradiol-17 $\beta$  secretions within the first hour after waking in premenarcheal girls. *Neuroendocrinology* 2014; 99 (3-4): 168–177. doi:10.1159/000363368
- [34] Goji K. Twenty-four-hour concentration profiles of gonadotropin and estradiol (E2) in prepubertal and early pubertal girls: the diurnal rise of E2 is opposite the nocturnal rise of gonadotropin.
- [35] Navarro VM, Castellano JM, García-Galiano D, et al. Neuroendocrine factors in the initiation of puberty: the emergent role of kisspeptin. *Rev Endocr Metab Disord* 2007; 8 (1): 11–20. doi:10.1007/s11154-007-9028-2
- [36] Lee J-H, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a Novel Human Malignant Melanoma Metastasis-Suppressor Gene. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 1996; 88 (23): 1731–1737. doi:10.1093/jnci/88.23.1731
- [37] Vila G. Ein Hormon stellt sich vor: Kisspeptin. *Journal für klinische Endokrinologie und Stoffwechsel* 2010 (3): 33–34
- [38] Tanner JM. Growth at adolescence. *American Journal of Physical Anthropology* 1956; 14 (1): 120–122. doi:10.1002/ajpa.1330140125
- [39] Hoffmann GF, Lentze MJ, Spranger J, Zepp F, Schaub J, Schulte FJ. *Pädiatrie: Grundlagen und Praxis*. Springer Berlin Heidelberg; 2014
- [40] Guerry JD, Hastings PD. In search of HPA axis dysregulation in child and adolescent depression. *Clin Child Fam Psychol Rev* 2011; 14 (2): 135–160. doi:10.1007/s10567-011-0084-5
- [41] Tataranni PA, Larson DE, Snitker S, et al. Effects of glucocorticoids on energy metabolism and food intake in humans. *Am J Physiol* 1996; 271 (2 Pt 1): E317–25. doi:10.1152/ajpendo.1996.271.2.E317
- [42] Gao W, Xie Q, Jin J, et al. HPLC-FLU detection of cortisol distribution in human hair. *Clin Biochem* 2010; 43 (7-8): 677–682. doi:10.1016/j.clinbiochem.2010.01.014
- [43] Ito N, Ito T, Kromminga A, et al. Human hair follicles display a functional equivalent of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and synthesize cortisol. *FASEB J* 2005; 19 (10): 1332–1334. doi:10.1096/fj.04-1968fje
- [44] Dettenborn L, Tietze A, Kirschbaum C, et al. The assessment of cortisol in human hair: associations with sociodemographic variables and potential confounders. *Stress* 2012; 15 (6): 578–588. doi:10.3109/10253890.2012.654479
- [45] Gaudl A, Kratzsch J, Bae YJ, et al. Liquid chromatography quadrupole linear ion trap mass spectrometry for quantitative steroid hormone analysis in plasma, urine, saliva and hair. *J Chromatogr A* 2016; 1464: 64–71. doi:10.1016/j.chroma.2016.07.087
- [46] Poulain T, Baber R, Vogel M, et al. The LIFE Child study: a population-based perinatal and pediatric cohort in Germany. *Eur J Epidemiol* 2017; 32 (2): 145–158. doi:10.1007/s10654-016-0216-9
- [47] Scharlau F, Pietzner D, Vogel M, et al. Evaluation of hair cortisol and cortisone change during pregnancy and the association with self-reported depression, somatization, and stress symptoms. *Stress* 2018; 21 (1): 43–50. doi:10.1080/10253890.2017.1392507



- [48] Quante M, Hesse M, Dohnert M, et al. The LIFE child study: a life course approach to disease and health. BMC Public Health 2012; 12: 1021. doi:10.1186/1471-2458-12-1021

## **6 Erklärung über eigenständige Abfassung der Arbeit**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

.....  
Datum

.....  
Unterschrift

## **7 Darstellung des eigenen Beitrages**

### **Anteil Maximiliane Wagner (Erstautorin):**

- Mitentwicklung der Projektidee
- Zweimonatige Mitarbeit in der LIFE Child Ambulanz (Abnahme der Haarsträhnen von Probanden, Betreuung der Probanden und Testverfahren)
- Selbstständige Verarbeitung und Aufarbeitung der Haarsträhnen in
- Auswertung und statistische Analyse der Daten
- Interpretation der Daten
- Schreiben des Manuskripts

### **Anteil Jürgen Kratzsch:**

- Mitentwicklung der Projektidee
- Mitentwicklung der Methodik der Haarprobenaufarbeitung und Cortisolbestimmung
- Unterstützung bei der Interpretation der Daten
- Überprüfung und Überarbeitung des Manuskripts

### **Anteil Mandy Vogel:**

- Unterstützung bei der statistischen Analyse und Interpretation der Daten
- Überprüfung und Überarbeitung des Manuskripts

### **Anteil Thomas Peschel:**

- Unterstützung bei der statistischen Analyse und Interpretation der Daten

### **Anteil Alexander Gaudi:**

- Mitentwicklung der Methodik der Haarprobenaufarbeitung und Cortisolbestimmung
- Unterstützung bei methodischen Fragestellungen
- Unterstützung meiner Mitarbeit in der Labormedizin zur Aufarbeitung der Proben

### **Anteil Joachim Thiery:**

- Unterstützung bei der Durchführung der Studie als ehemaliger Leiter des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik

### **Anteil Uta Ceglarek:**

- Unterstützung bei der Durchführung der Studie als Leiterin des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik

### **Anteil Andreas Hiemisch:**

- Unterstützung bei der Durchführung der Studie als Oberarzt der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin

### **Anteil Antje Körner:**

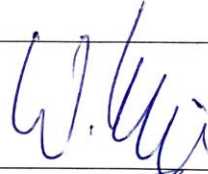

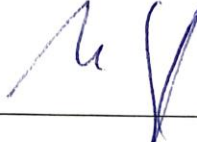

- Unterstützung bei der Durchführung der Studie als Oberärztin der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin

### **Anteil Wieland Kiess (Letztautor):**

- Mitentwicklung der Projektidee

- Betreuung bei Konzeption und Design der Studie
- Betreuung der Durchführung der Studie
- Unterstützung bei der statistischen Analyse und Interpretation der Daten
- Überprüfung und Überarbeitung des Manuskripts

Die Angaben über den wissenschaftlichen Beitrag der Promovendin an der oben genannten Publikation können wir bestätigen:

Prof. Dr. med. Wieland Kiess	
Prof. Dr. Jürgen Kratzsch	
Dr. Mandy Vogel	
Dr. med. Andreas Hiemisch	<del>Dr. med. Dipl.-Psych. Andreas Hiemisch OA für Kinder- und Jugendmedizin Universitätsklinikum Leipzig Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin</del>
Thomas Peschel	
Alexander Gaudi	
Prof. Dr. Uta Ceglarek	
Prof. Dr. Joachim Thiery	
Prof. Dr. Antje Körner	

## 8 Lebenslauf

**Maximiliane Wagner**

Zschochersche Strasse 66  
04229 Leipzig

0049-17647128381  
maximiliane-wagner@web.de

<b>Persönliche Angaben</b>	Geburtsdatum: 04.03.1993 Geburtsort: Frankenberg Familienstand: ledig Nationalität: deutsch
<b>Bildungsweg</b>	<b>Universität Leipzig</b> Humanmedizin 10/2011-09/2013 Vorklinik 10/2013-06/2018 Klinik <b>Ärztliche Prüfung mit Gesamtnote „gut“</b>  <b>G.-E.- Lessing Gymnasium, Döbeln</b> 08/2005-07/2011 07/2011 Abitur (1,3)
<b>Beruflicher Werdegang</b>	<b>Ärztin in Weiterbildung für Gynäkologie und Geburtshilfe</b> <b>Sana Kliniken Leipziger Land</b> Seit 09/2018
<b>Berufspraktische Erfahrungen</b>	<b>Promotion an der Universität Leipzig, Kinderklinik LIFE Child</b> <b>Forschungsambulanz, Prof. Dr. med. W. Kiess</b> Seit 10/2013  <b>Ärztin in Weiterbildung, Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Sana Kliniken Leipziger Land</b> Seit 09/2018  <b>Praktisches Jahr, 3. Tertial Innere Medizin</b> <b>Universitätsklinikum Leipzig</b> 12/2017- 04/2018  <b>Praktisches Jahr, 2. Tertial Chirurgie,</b> <b>Triemli Spital Zürich</b> 09/2017- 12/2017

**Praktisches Jahr, 1. Tertial Gynäkologie und Geburtshilfe,  
Sana Kliniken Leipziger Land**  
05/2017- 09/2017

**Studentische Hilfskraft Hospiz Villa Auguste, Leipzig**  
01/2016 – 12/2016

**Famulatur Gynäkologie, Klinikum Singen am Bodensee**  
08/2015– 09/2015

**Famulatur Viszeralchirurgie, Klinikum Döbeln**  
02/2015– 03/2015

**Famulatur Innere Medizin, Klinikum Emden**  
08/2014– 09/2014

**Famulatur LIFE Child Forschungsambulanz, Leipzig**  
02/2014– 03/2014

**Pflegepraktikum Knochenmarktransplantationseinheit,  
Universitätsklinikum Leipzig**  
02/2013– 03/2013

**Pflegepraktikum Orthopädie, Klinikum Döbeln**  
09/2012– 10/2012

**Pflegepraktikum Innere Medizin, Filderlinik Stuttgart**  
02/2012– 03/2012

## **Sprachen**

**deutsch**  
Muttersprache

**englisch**  
fließend in Wort und Schrift

**französisch**  
Grundkenntnisse

## 9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich besonders jenen danken, die mich durch ihre fachliche und persönliche Kompetenz unterstützt haben und damit wesentlich zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

In erster Linie danke ich allen Probandinnen und Probanden der LIFE Child Study, sowie deren Eltern, die sich die Zeit nahmen, um an unseren Projekt teilzuhaben.

Ich danke ganz besonders dem Team der LIFE Child Ambulanz, durch deren kontinuierliche und motivierte Arbeit diese Studie ermöglicht wurde.

Weiterhin möchte ich der Klinik für Kinder und Jugendmedizin Leipzig, sowie dem Team des Instituts für Laboratoriumsmedizin und klinische Chemie Leipzig für ihre große Unterstützung in jedem Abschnitt des Projekts, wie bei der Ideenentwicklung, Erhebung der Daten und der aufwendigen und zeitintensiven Messung meiner Proben, danken.

Ich danke Dr. Mandy Vogel für ihre zeitaufwendige Unterstützung bei der statistischen Auswertung, sowie für ihre stetige Geduld, Ruhe und ihren andauernden Zuspruch.

Ich möchte mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Jürgen Kratzsch bedanken: seine offene, freundliche und fachliche Betreuung, seine schnelle Erreichbarkeit bei jeder Fragestellung und die konstruktive Kritik waren die Basis für das Gelingen der Publikation.

Für die Vergebung der Promotionsarbeit und die langjährige intensive Betreuung bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Wieland Kiess.

Ich bedanke mich bei meinen lieben Freunden für die immerwährende Motivation und die ermutigenden Gespräche. Besonders meinem Partner Maximilian gebührt größter Dank, er unterstützte mich nicht nur fachlich und bei der Umsetzung meines Projekts, sondern auch ganz persönlich mit seinem offenen Ohr, seinem Rückhalt und seiner Herzlichkeit.

Meinen Eltern Gabriele und Thomas danke ich besonders für den emotionalen Rückhalt, die kompromisslose Unterstützung und den Glauben an mich.

Danke, für alle wärmenden und liebevollen Worte.